Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. O. P. Hornstein

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR ZENTRIFUGATION UND DILUTION DES MENSCHLICHEN SPERMAS MIT HYPER-, ISO- UND HYPOTONEN LÖSUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Werner Klaus Fiermann
aus Weissenfels

1976 № 333

Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. O. P. Hornstein

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR ZENTRIFUGATION UND DILUTION DES MENSCHLICHEN SPERMAS MIT HYPER-, ISO- UND HYPOTONEN LÖSUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Werner Klaus Fiermann
aus Weissenfels

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Priv.-Doz. Dr. N. Hofmann
Korreferent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 16. August 1976

Herrn Professor Dr. med. O.P. HORNSTEIN danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Themas und für die Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Besonders danken möchte ich auch Herrn Priv. Doz. Dr. med. N. HOFMANN, der mir jederzeit hilfreich zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich noch danken Fräulein E. ZIEGLWALNER und Frau D. BEESKOW für die praktische Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546220_0044

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	2
II.	Eigene Fragestellung	5
III.	Material und Methoden	5
	1. Material der Untersuchung	5
	2. Eigene durchgeführte Untersuchungen	9
IV.	Ergebnisse	12
	1. Graphische Darstellung	12
	1.1. der Spermatozoenmotilität bei einmaligem Waschvorgang mit Zentrifugation und einfacher Dilution	12
	1.2. des Motilitätsverhaltens bei dreimaligem Zentrifugieren und dreimaligem Waschen und Zentrifugieren	14
	1.3. der Motilitätswerte nach ein-, zwei- und dreimaligem Waschen und Zentrifugieren	17
	1.4. des Motilitätsverhaltens nach dreimaligem Waschen und Zentrifugieren und anschließender Resuspension	19
	2. Verhalten der Spermatozoenmotilität nach ein- bis dreimaligem Wasch- und Zentrifugationsvorgang bei Zugabe verschiedener Ionenlösungen	21
	3. Motilitätsverhalten bei Zuordnung zu verschiedenen klinischen Syndromen	25
V.	Diskussion	27
VI.	Zusammenfassung	32
VII.	Literaturverzeichnis	33
VIII.	Anhang	37

I. Einleitung

Die Trennung von Spermatozoen und Spermaplasma ist in der experimentellen Spermaphysiologie wichtig, da exakte Untersuchungen an Spermatozoen bzw. Spermaplasma nur an der jeweils reinen Fraktion vorgenommen werden können.

Spermatozoen sind in einem besonderen Maße von der umgebenden Flüssigkeit abhängig. Veränderungen der Molalität, der Dilution, des pH-Milieus, der Temperatur, der Ionenzusammensetzung und der kolloidalen Flüssigkeit beeinträchtigen die Spermatozoen in ihrer Physiologie und zum Teil in ihrer Morphologie (1,2,6,7,17,18). Eine Trennung der Spermatozoen und des Spermaplasmas läßt sich lediglich durch Zentrifugation und Waschen erreichen, beides Vorgänge einer äußeren Einwirkung, die nicht ohne Folgen sind (17,23).

So führt die einfache Dilution mit isoosmolaren Lösungen, insbesondere isoosmolare Ionenlösungen zu einer Schädigung der Spermatozoen. Bei geringgradiger Dilution wurden der Spermatozoenmetabolismus und die Spermatozoenmotilität zunächst gesteigert, um sich jedoch im weiteren Verlauf eher zu erschöpfen (2,8,17, 19,21,22).
Stärkere Dilution führt dagegen von vorne herein zu einer Beinträchtigung der Motilität. W e i r a u c h und H o f m a n n (20,12) konnten nachweisen, daß bei zunehmender Dilution zunächst die Spermatozoenprogression und schließlich die gesamte Motilität eingestellt wird. Durch Zugabe einer makromolekularen Lösung auf TCM-Basis war das Phänomen jedoch reversibel, d.h. bei zunehmender

Dilution trat eine reversible Enzymblockierung ein; eine Festigung der Membranen durch das genannte kolloidale Medium führte zur Aktivierung der betroffenen Enzymsysteme.

Ähnlich bzw. noch deutlicher schädigend ist die Spermatozoenzentrifugation (17). Bei der Zentrifugation wird entsprechend der Umlaufgeschwindigkeit eine Schädigung der Spermatozoen eintreten. Diese Schädigung kann mechanisch durch Aneinanderschlagen der Spermatozoen bzw. anderer Zellelemente erklärt werden, andererseits jedoch auch durch die Veränderung der umgebenden Flüssigkeit. Im Überstand sind die Spermatozoen erheblich dilutiert, im Sediment verdichtet. In eigenen experimentellen Untersuchungen haben B o d e n s t e i n (3) und D o r n (5) die kritische Grenze der beginnenden Zellschädigung bei Zentrifugation durch Bestimmung der Spermatozoenmotilität ermittelt. Bei Zentrifugation mit Umlaufgeschwindigkeiten von 1000 U/min und bis zu einem bestimmten Ausmaß auch von 1500 U/min über 10 Minuten wurde keine Schädigung der Spermatozoen gesehen. Vielmehr war im Sediment eine gegenüber der Ausgangsmotilität verbesserte Motilität festzustellen. In seinen Untersuchungen konnte D o r n (5) nachweisen, daß dieser Effekt durch die geotrope Eigenmotilität der Spermatozoen bedingt ist. Bei höheren Umlaufgeschwindigkeiten trat jedoch eine zunehmende Schädigung der Spermatozoen ein, die bei 3000 U/min sehr deutlich ausgeprägt war. T. M a n n (17) hat auf den schädigenden Effekt der Spermatozoenzentrifugation hingewiesen und diesen Effekt biochemisch durch den Austritt intrazellulärer Enzyme nachweisen können. Ähnliche Untersuchungen sind von G l o v e r and N i c a n d e r (9) durchgeführt worden bei Spermatozoen von caput und cauda epididymidis. Hierbei wurde aufgezeigt, daß die Schädigung der Spermatozoen von caput epididymidis stärker war als bei Spermatozoen von der cauda epidiymidis; ein Hinweis auf die im Neben-

hoden stattfindende Ausreifung der Spermatozoen.

Spermatozoen vertragen eine Dilution in hypoosmolarer Lösung schlechter als in hyperosmolarer Lösung, was in experimentellen Untersuchungen von Emmens and Swyer (8), Wales and White (19) und Joel (16) unter anderen nachgewiesen wurde.

Um eine schonende, aber doch hinreichende Trennung von Spermatozoen und Spermaplasma zu erreichen, ist eine Zentrifugation unumgänglich. Sie dürfte jedoch bei Anwendung hyperosmolarer Waschmedien sowie bei wiederholten Zentrifugationen mit Umlaufgeschwindigkeiten von 1500 U/min über jeweils 10 Minuten am geeignetsten sein.

II. Eigene Fragestellung

Da Spermazentrifugationen mit Umlaufgeschwindigkeiten von 1000 - 1500 U/min am günstigsten sind, sollte durch Änderungen der Molarität der Waschlösungen beim dreimaligen Wasch- und Zentrifugationsvorgang das optimale Medium ermittelt werden.

Darüber hinaus sollte der Einfluß von Ionenlösungen sowie des pH-Wertes und in gleicher Weise die bei der artifiziellen Insemination durchgeführte Säuerung des Mediums bei wiederholtem Wasch- und Zentrifugationsvorgang untersucht werden.

Im zweiten Teil der Untersuchungen waren Spermaproben von Patienten mit chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen mit Spermaproben von Patienten mit einem vegetativen Kongestionssyndrom hinsichtlich der Vulnerabilität zu vergleichen.

III. Material und Methoden

1. Material der Untersuchung

Untersucht wurden 60 Spermaproben von Männern der andrologischen Sprechstunde der Dermatologischen Universitätsklinik Erlangen, im Zeitraum März bis Oktober 1974.

Das Sperma war durch Masturbation bei fünftägiger Karenz gewonnen worden und war im andrologischen Labor nach einem feststehenden Schema untersucht

worden.

Diese Untersuchungen betreffen makroskopisch das Ejakulatvolumen, pH-Wert, Aussehen, Verflüssigungszeit und Viskosität; mikroskopisch wurden Zahl, Motilität und Morphologie der Spermatozoen ermittelt.

Die Motilität wurde in drei Kriterien gegliedert:

a) Gesamtmotilität
   Dabei wurden 300 Spermatozoen in einem Deckglaspräparat ausgezählt und der Anteil der motilen gegenüber dem Anteil der nicht motilen erfaßt.

b) Motilitätsverlußt nach drei Stunden
   Wiederum in einer quantitativen Analyse.

c) Progressive Motilität
   D.h. der Anteil der linear und mit einer normalen Geschwindigkeit sich vorwärts bewegenden Spermatozoen.

Die morphologische Differenzierung der Spermatozoen hinsichtlich des Prozentanteils der normal und pathologisch konfigurierten Spermatozoen sowie des Prozentanteils von Spemiogenesezellen, Epithelzellen und Leukozyten, gerechnet auf die Spermatozoenzahl, wurde an gefärbten Spermatozoenausstrichen durchgeführt.

Die spermatologische Untersuchung wurde schließlich durch eine biochemische Bestimmung der Spermafruktose und die Bestimmung des Fruktoseverbrauches abgeschlossen.

Bei Patienten der andrologischen Sprechstunde wurde neben der spermatologischen Untersuchung eine klinische Untersuchung durchgeführt. Erst aufgrund dieser beiden, z.T. auch anderweitigen Untersuchungsmethoden, wurde die nosologische Zuordnung durchgeführt, d.h. es wurden Krankheiten diagnostiziert, die Spermaveränderungen bedingen.

Die Untersuchungen von Weirauch (20), Karlas (11), Bodenstein (3) und Hüttel (15) hatten gezeigt, daß insbesondere chronische Entzündungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen durch eine Störung der Spermatozoenausreifung zu Membranveränderungen im Sinne einer erhöhten Permeabilität führen. Spermaproben dieser entzündlichen Erkrankungen wurden gesondert untersucht und mit Spermaproben eines Kongestionssyndroms verglichen. Unter dem Kongestionssyndrom wird eine vegetative Störung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen verstanden, die sich teils als spastisch, teils als atonisch manifestiert und mit Veränderungen der Zusammensetzung des Spermaplasmas einhergeht. Durch Vergleich derartiger Spermaproben mit denen einer echten Entzündung sollte ermittelt werden, bei welcher dieser beiden Krankheiten die Spermatozoenausreifung stärker geschädigt ist.

Insgesamt wurden zwölf Spermaproben von Männern mit einer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und fünfzehn Spermaproben von Männern mit Kongestionssyndrom untersucht.

Zur Spermatozoenwaschung wurden - im Bezug auf die Osmolarität des Spermaplasmas - iso-, hyper-, bzw. hypoosmolare Lösungen der nachstehenden Medien I bis VI verwendet.

Medium	A KH-Anteil	B Pufferlsg	A:B	Osmolarität(A+B) (osmol/l)
Ia Ib	Glucose	Na-Citrat	2:3	0,737 0,273
IIa IIb	Raffinose	Tris-HCl	1:1	0,318 0,142
IIIa IIIb	Glucose	Tris-HCl	1:1	0,819 0,239
IVa IVb	Fructose	Tris-HCl	1:1	0,819 0,239

Medium	A KH-Anteil	B Pufferlsg.	A:B	Osmolarität(A+B) (osmol/l)
Va Vb	Glucose	Ringer+ Fructose	2:3	0,831 0,367
VIa VIb	Ráffinose	Na-Citrat	1:1	0,353 0,177

\+ Sterofundin^{R} HL-5 Infusionslösung, B. Braun Melsungen AG
Med.Pharm. Werke

1000 ml enthalten:

Natriumchlorid	2,930 g	Elektrolyte:	
Kaliumchlorid	0,149 g		mval/l
Magnesiumchlorid $\cdot 6\ H_2O$	0,102 g	Na	70,0
Calciumlactat	0,386 g	K	2,0
Natriumlactat	2,240 g	Ca	2,5
Laevulose	50,000 g	Mg	1,0
(Fructose)		Cl	53,0
Aqua pro inject. ad	1000 ml	Lactat	22,5

Die Zuckeranteile (Raffinose-Glucose-Fructose) der Waschmedien wurden in zwei verschiedenen Konzentrationen hergestellt: in 25,9 %iger (a) und in 5 %iger (b) Lösung. Dazu wurden jeweils 25,9 g bzw. 5g Raffinose, Glucose oder Fruktose in einem ERLENMEYER-Kölbchen gelöst und bis 100 ml mit Aqua dest. aufgefüllt.- Es entstanden so von jedem Medium eine Lösung a mit 25,9%igem und eine Lösung b mit 5%igem Zuckeranteil.
Insgesamt wurden auf diese Weise zwölf Waschmedien verschiedener Konzentration und Osmolarität hergestellt.

Als Pufferlösungen dienten das bereits erwähnte Tris-HCl-Gemisch, hergestellt aus 12,11g Tris(Trishydroxymethylaminomethan) und 80,0 ml 1molarer HCl, beides in Aq.dest. gelöst und auf 1000 ml aufgefüllt; sowie eine 2,9%ige Na-Citrat-Lösung.- Außerdem wurde für Medium V eine Elektrolyt-Lösung (Ringer-Fruktose) verwendet.

2. Eigene durchgeführte Untersuchungen

Es sollen zunächst kurz die beiden Begriffe Zentrifugieren und Waschen im Zusammenhang mit den nachstehenden Untersuchungen erläutert werden.

Unter Zentrifugieren wird hier die Zentrifugation zur Trennung von Spermatozoen und Spermaplasma bei einer Umlaufgeschwindigkeit von 1500 U/min über jeweils 10 Minuten Dauer in besonderen Zentrifugationsröhrchen (NISSL-Röhrchen) verstanden.

Der Begriff Waschen beinhaltet eine Verdünnung der Spermaproben mit einem der oben genannten Waschmedien.

Bei jeder der 60 Spermaproben wurde nach folgendem Untersuchungsschema vorgegangen: (vgl. Seite 11)

1) Bestimmung der nativen Motilität

Es wurden hier 300 Spermatozoen in einem Deckglaspräparat ausgezählt und der Anteil der beweglichen gegenüber dem Anteil der nicht beweglichen Spermatozoen prozentual ermittelt. Der Prozentsatz der beweglichen Spermatozoen stellte den Ausgangswert für die weiteren Untersuchungsergebnisse dar.

2) Waschen, n i c h t zentrifugieren (W/NZ)

Ein Tropfen Sperma wurde mit einem Tropfen Waschmedium verdünnt, gut durchmischt und wieder in einem Deckglaspräparat die Motilität bestimmt.

3) Waschen u n d zentrifugieren (W/Z)

a) Hierzu wurden 0,5 ml Sperma mit der gleichen Menge eines Waschmediums in ein NISSL-Röhrchen pipettiert, gut durchgemischt und bei einer Umlaufgeschwindigkeit von 1500 U/min 10 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde dekantiert und ein kleiner Teil des Sediments zur Motilitätsbestimmung verwendet. Dieser Vorgang wurde als einmaliges Waschen und Zentrifugieren bezeichnet (1 W/Z).

b) Das im NISSL-Röhrchen verbliebene Sediment wurde mit 1 ml Waschmedium resuspendiert, erneut zentrifugiert und aus dem Sediment die Motilität nach zweimaligem Waschen und Zentrifugieren bestimmt (2 W/Z).

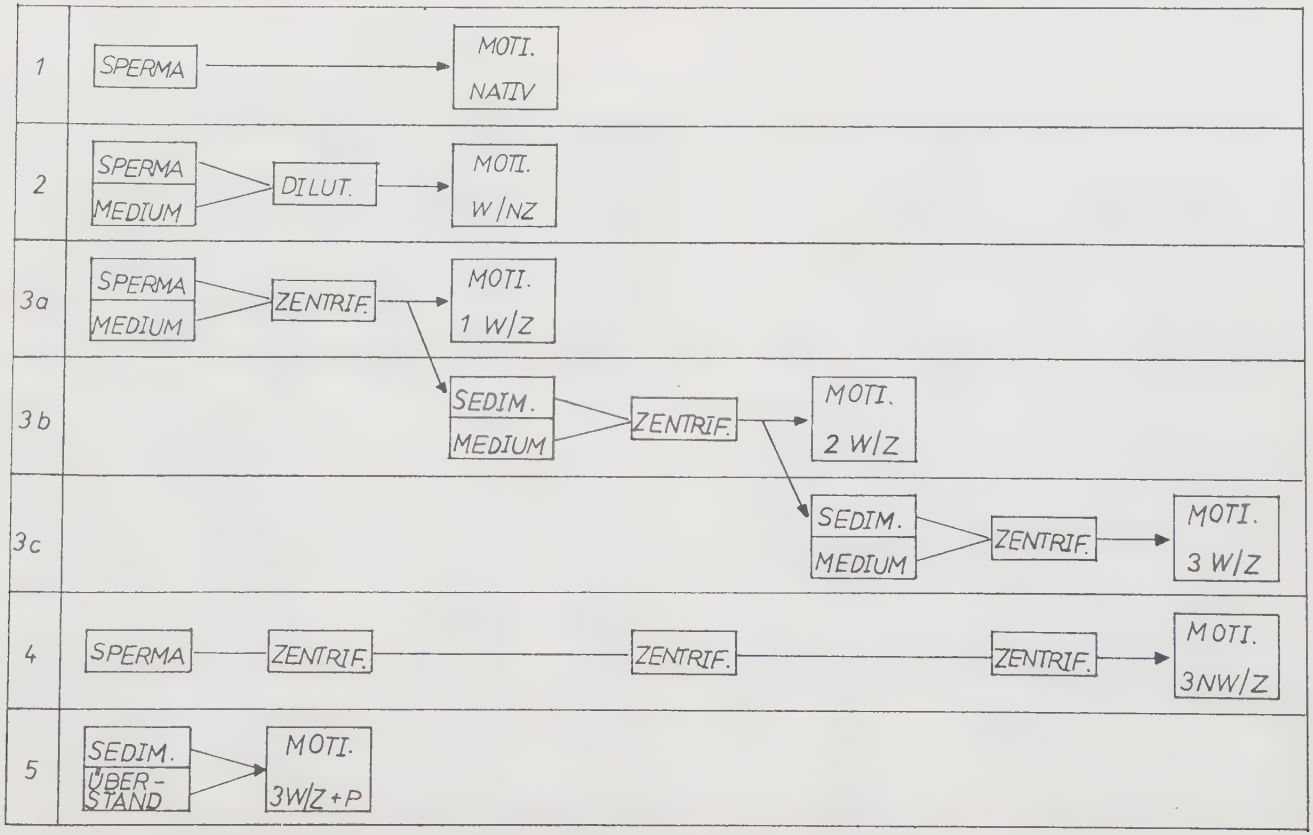
c) Der Waschvorgang wurde schließlich durch nochmaliges Waschen und Zentrifugieren abgeschlossen (3 W/Z). Nach abermaliger Motilitätsbestimmung wurde das noch vorhandene Sediment zu einem Wiederbelebungsversuch mit dem zugehörigen Spermaplasma herangezogen (s. später).

4) Zentrifugation

1 ml Sperma wurde in zu den eben erwähnten Waschvorgängen parallel laufenden Versuchen insgesamt drei Mal hintereinander zentrifugiert mit einer Umlaufgeschwindigkeit von 1500 U/min über jeweils 10 Minuten, die Motilität aus dem Sediment ermittelt (3 NW/Z) und der Überstand für den nächsten Untersuchungsgang verwendet.

5) Wiederbelebung

Die dreimalig gewaschenen und zentrifugierten Spermatozoen wurden mit dem Überstand, d. h. dem zugehörigen Spermaplasma, welches nach dreimaligem Zentrifugieren gewonnen wurde, suspendiert und hinsichtlich einer eventuellen Steigerung ihrer Motilität untersucht (3 W/Z + Plasma)!


1
SPERMA
MOTI. NATIV
2
SPERMA
MEDIUM
DILUT.
MOTI. W/NZ
3a
SPERMA
MEDIUM
ZENTRIF.
MOTI. 1 W/Z
3b
SEDIM.
MEDIUM
ZENTRIF.
MOTI. 2 W/Z
3c
SEDIM.
MEDIUM
ZENTRIF.
MOTI. 3 W/Z
4
SPERMA
ZENTRIF.
ZENTRIF.
ZENTRIF.
MOTI. 3NW/Z
5
SEDIM.
ÜBER-STÄND
MOTI. 3W/Z+P

IV. Ergebnisse

Um festzustellen, ob beim Waschvorgang und Zentrifugation hypertones oder hypotones Medium von den Spermatozoen besser vertragen wird, wurden drei Wasch- und Zentrifugationsvorgänge mit einem hypertonen und einem hypotonen Medium vorgenommen. Zentrifugiert wurde mit 1500 U/min für jeweils 10 Minuten; als Waschlösung diente Fructose/Tris-HCl mit einem hypertonen Kohlenhydratanteil (25,9 %) und einem hypotonen Kohlenhydratanteil (5 %). Insgesamt wurden in dieser Art 30 Proben untersucht.

1. Graphische Darstellung

1.1. Nachfolgend wird zunächst das Ergebnis der Spermatozoenmotilität bei einmaligem Waschvorgang mit Zentrifugation (1 W/Z) und einer einfachen Dilution (W/NZ) mit dem hypertonen und dem hypotonen Medium bei jeweils 15 Spermaproben graphisch mitgeteilt.

Die Ausgangsmotilität lag im Mittel in der ersten Gruppe (hypertones Medium) bei $\bar{m}$ = 61,9 %, und in der zweiten Gruppe (hypotones Medium) bei 63,5 %.

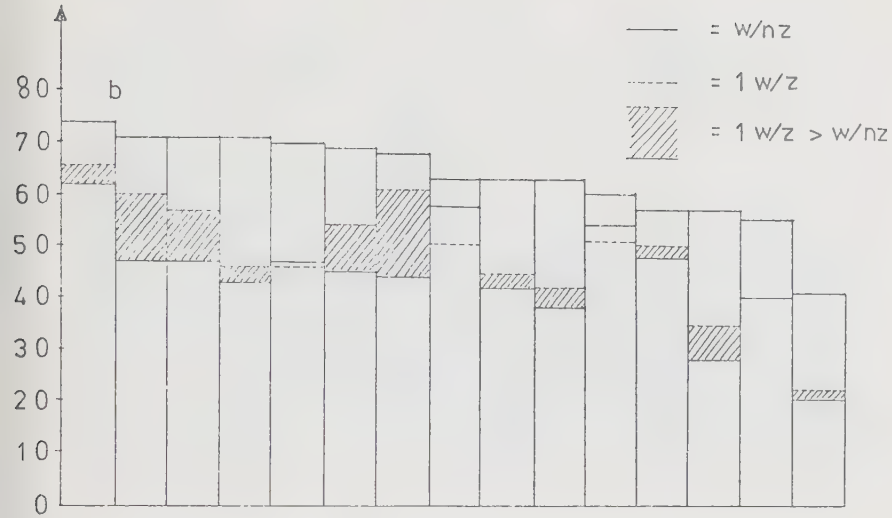


Abb. 1a und 1b: Graphische Darstellung der Dilutions- und Zentrifugationsschädigung in hypertonem(a) bzw. hypotonem Medium(b). Waschmedium: Fructose/Tris-HCl.

Ergebnis (Abb. 1 a, b)

Dabei zeigt sich, daß bei der 1. Gruppe in 9 Fällen der Wasch- und Zentrifugationsvorgang weniger schädigend war als die bloße Dilution, während in 6 Fällen die Dilution weniger die Motilität beeinträchtigt hatte.

In der 2. Gruppe fand sich bei 12 Fällen eine stärkere Schädigung durch Dilution und in 3 Fällen eine geringere Schädigung verglichen mit einmaligem Waschen und Zentrifugieren.

Der Unterschied zwischen Dilutionsschädigung und Schädigung durch Waschen und Zentrifugieren war nicht immer deutlich ausgeprägt; in der 1. Gruppe war in 5 Fällen eine Differenz von 5 % gegeben, in der 2. Gruppe in 6 Fällen. Die größte Differenz betrug in der 1. Gruppe 10 - 15 %, in der 2. Gruppe 15 - 20 %. Vergleicht man beide Gruppen miteinander, so fand sich in 9 Fällen eine Übereinstimmung, in 6 Fällen keine Übereinstimmung.

Insgesamt zeigt sich, daß bereits eine einmalige Dilution die Spermatozoen stärker schädigt, als die einmalige Waschung und Zentrifugation und daß die hypertone Lösung besser toleriert wird als die hypotone Lösung.

Nimmt man den prozentualen Motolitätsabfall, dann findet sich in der hypertonen Gruppe bei einmaligem Waschen und Zentrifugieren eine mittlere Motilität von 76 % bei einer Standardabweichung von 12,8 % gegenüber einem Mittel von 73,5 % bei einer Standardabweichung von 16,2 % bei der bloßen Dilution. - In der Gruppe des hypotonen Mediums wurde für einmaliges Waschen und Zentrifugieren ein Wert von 75 % bei einer Standardabweichung von 11,3 % und für die bloße Dilution im Mittel 69,3 % bei einer Standardabweichung von 13,2 % ermittelt.

1.2. Bei dreimaligem Zentrifugieren und dreimaligem Waschen und Zentrifugieren, wiederum getrennt nach hypertonem und hypotonem Medium, fand sich folgendes Motilitätsverhalten der Spermatozoen:

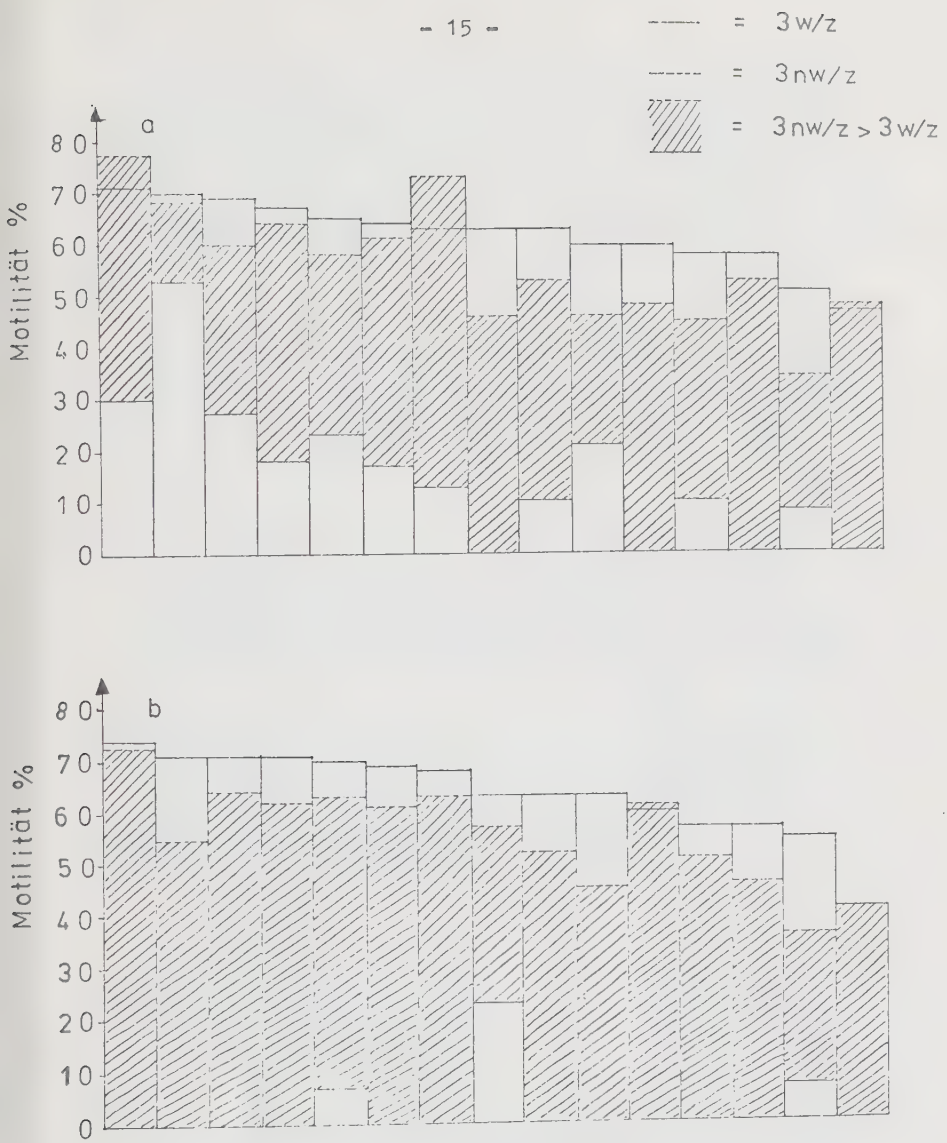


Abb. 2a und 2b: Motilitätsverhalten der Spermtozoen nach dreimaligem Zentrifugiern bzw. dreimaligem Waschen und Zentrifugieren in hypertonem(a) und hypotonem Medium(b).
Waschmedium: Fructose/Tris-HCl.

In allen Fällen hatte der dreimalige Wasch- und Zentrifugationsvorgang gegenüber einer dreimaligen Zentrifugation die Spermatozoenmotilität stärker geschädigt, wobei sich der Schädigungseffekt im hypotonen Medium deutlicher ausprägte als im hypertonen Medium. In 2 Fällen lag im hypertonen Medium die Spermatozoenmotilität nach dreimaliger Zentrifugation sogar über dem Nativwert. In einem Fall war sie gleich. Der Motilitätsverlust betrug jedoch nie mehr als 20 %. In der Gruppe des hypotonen Mediums fand sich in 2 Fällen ebenfalls keine Schädigung durch die Zentrifugation; auch hier war der Motilitätsverlust nicht stark und lag in keinem Fall über 20 %.

Vergleicht man nun den Schädigungseffekt durch dreimaliges Waschen und Zentrifugieren, zeigt sich eine deutlich stärkere Schädigung in der Gruppe des hypotonen Mediums. Verglichen mit dem Motilitätsverhalten nach dreimaliger Zentrifugation betrug der Motilitätsabfall bis nahezu 100 % während ein derart starker Motilitätsverlust in der Gruppe des hypertonen Mediums lediglich in einem Fall gegeben war.

In der Gruppe des hypotonen Mediums war die Motilität nach dreimaligem Wasch- und Zentrifugationsvorgang auf 4 % der Ausgangsmotilität reduziert bei einer Standardabweichung von 9,7 % während nach dreimaliger Zentrifugation die resultierende Motilität immerhin 87 % der Ausgangsmotilität betrug bei einer Standardabweichung von 10,2 %.

Für das hypertone Medium ergab sich eine Überlebensrate von 23,3 % bei 20,7 % Standardabweichung nach dreimaligem Waschen und Zentrifugieren gegenüber einer Überlebensrate von 89,5 % bei 13,6 % Standardabweichung nach dreimaligem Zentrifugieren.

Dieses Ergebnis ist eindeutig und sagt aus, daß der zusätzliche Dilutionsvorgang bei dreimaligem Waschen und Zentrifugieren gegenüber dreimaliger Zentrifugation erheblich schädigender ist und daß diese Schädigung durch Dilution im hypertonen Medium gemildert wird.

1.3. Um den Vorgang der Spermatozoenschädigung durch Waschen und Zentrifugieren in hypertonem und hypotonem Medium darzustellen wurden die Motilitätswerte nach ein-, zwei- und dreimaligem Waschen und Zentrifugieren getrennt bestimmt. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

Beim Waschen und Zentrifugieren im hypertonen Medium fand sich ein abgestufter Schädigungseffekt, der von der Höhe der vorgegebenen Motilität abhängig war. Je besser die Ausgangsmotilität, um so geringer der Motilitätsverlust.

Weiterhin zeigt sich, daß die Spermatozoenschädigung sich mit der wiederholten Durchführung von Waschen und Zentrifugieren steigert. Diese graduelle Abhängigkeit vom wiederholten Wasch- und Zentrifugationsvorgang zeigt sich ebenfalls in der Gruppe des hypotonen Mediums, wobei der dreimalige Vorgang fast ohne Ausnahme zu einer vollständigen Immobilisierung der Spermatozoen geführt hatte. Die graduelle Abhängigkeit der Spermatozoenschädigung von der Ausgangsmotilität war dagegen in dieser Gruppe nicht eindeutig nachweisbar.

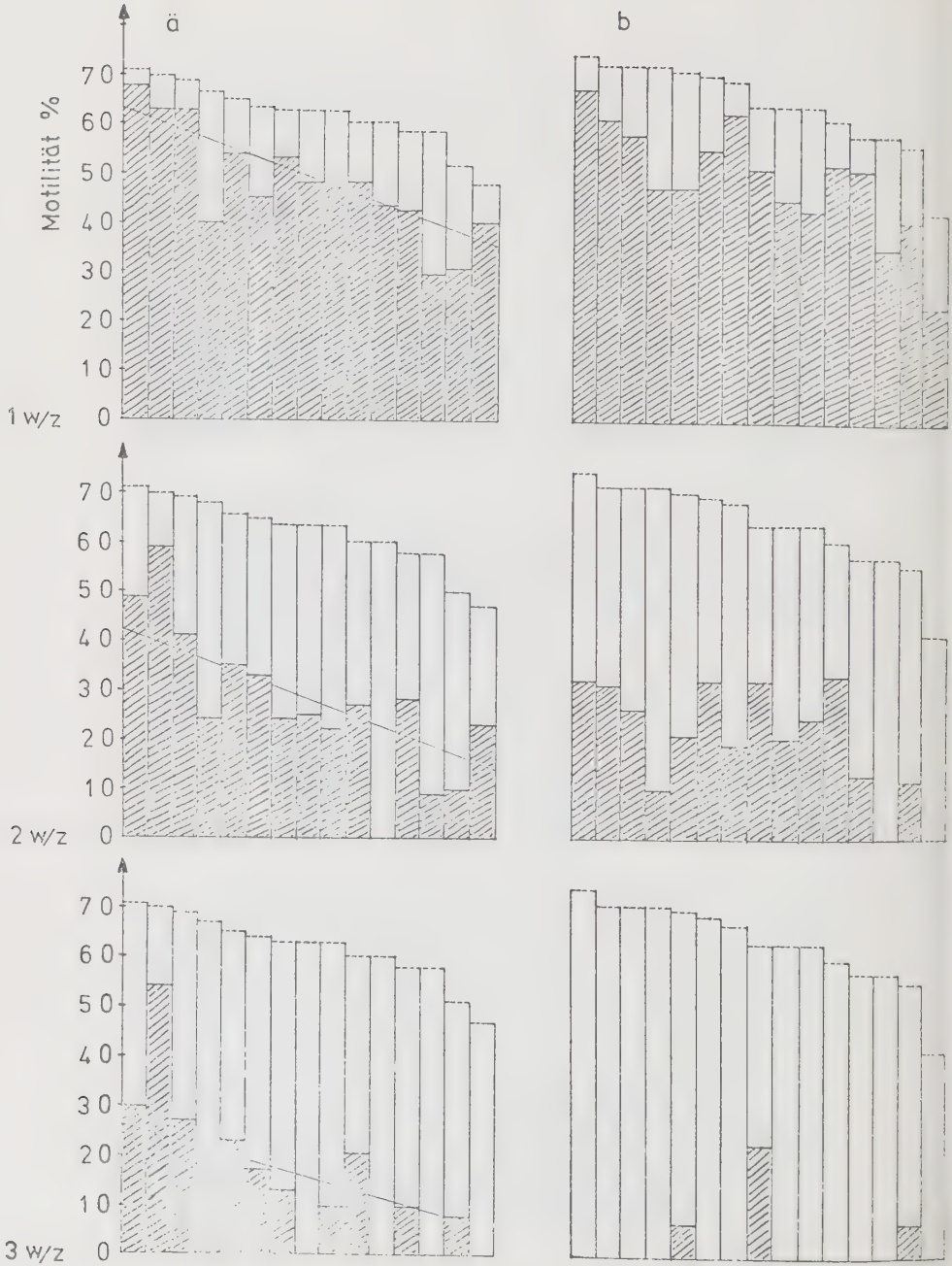


Abb. 3a und 3b: Abfall der Motilität nach ein-, zwei- und dreimaligem Waschen und Zentrifugieren, getrennt nach hypertonem(a) und hypotonem Medium(b).

1.4. Da bei dreimaligem Waschen und Zentrifugieren eine erhebliche Immobilisierung der Spermatozoen eingetreten war, insbesondere bei Verwendung eines hypotonen Mediums, wurden die Spermatozoen anschließend im eigenen Spermaplasma resuspendiert.

Dabei fand sich in der Gruppe des hypertonen Mediums in 8 Fällen eine größere Motilität. Der Unterschied betrug maximal mehr als 30 %. Hierbei handelt es sich um eine Wiederbelebung, d. h. die Spermatozoen waren zwar immobil, jedoch nicht devital und konnten durch Kontakt mit einer makromolekularen Lösung in dem beschriebenen Ausmaß zu einer Wiederbelebung gelangen.

Dieser Effekt war in der Gruppe des hypotonen Mediums lediglich in 5 Fällen ausgeprägt, wobei die Wiederbelebung quantitativ im günstigsten Fall knapp über 20 % lag.

Diese Ergebnisse zeigen, daß im hypotonen Medium die Schädigung tiefgreifender ist als im hypertonen. In beiden Gruppen ist die Schädigung jedoch bis zu einem bestimmten Grad reversibel.

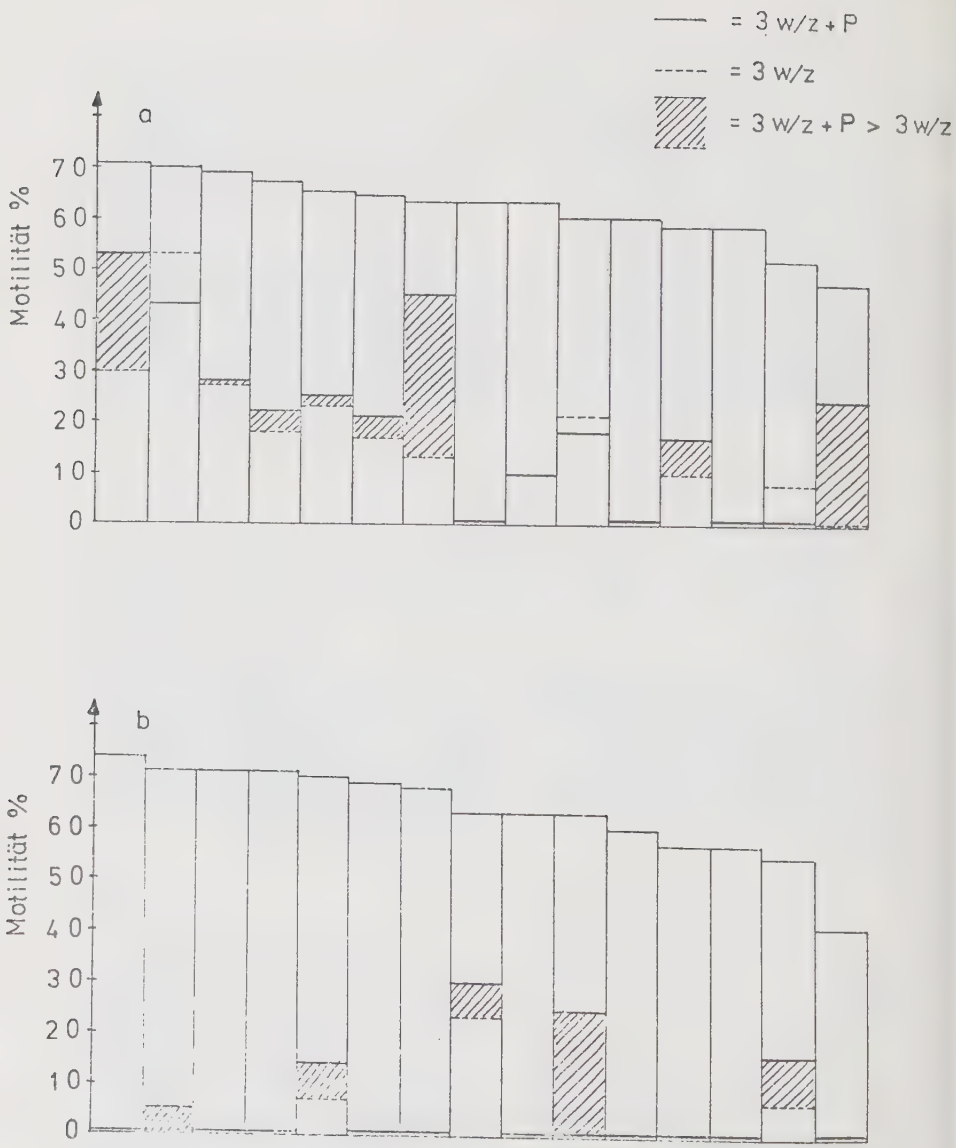


Abb. 4a und 4b: Motilitätsverhalten der nach dreimaligem Waschen und Zentrifugieren mit eigenem Spermaplasma resuspendierten Spermatozoen, getrennt nach hypertonem(a) und hypotonem Medium(b).

2. Verhalten der Spermatozoenmotilität nach ein- bis dreimaligem Wasch- und Zentrifugationsvorgang bei Zugabe verschiedener Ionenlösungen

Bei hypertonen und hypotonen bzw. isotonen Medien mit Glucose als Kohlehydratanteil wurden verschiedene Ionenlösungen zugegeben:

a) Na-Citrat-Lösung, die beim artifiziellen Inseminationsmedium angewandt wird im Verhältnis Glucose zu Na-Citrat wie 2 : 3.

b) Tris-HCl als Pufferlösung für pH-Bereich 7,2 - 9,0.

c) Ringer-Fructose-Lösung im Verhältnis Glucose zu Ringer-Fructose wie 2 : 3 als Wiederbelebungsflüssigkeit.

Dabei wurden folgende Ergebnisse erhalten:

	Na-Citrat		Tris-HCl		Ringer-Fructose	
	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s
1 W/Z	52,2	19,3	71,3	25,6	73,0	8,7
W/NZ	65,7	3,0	58,0	16,4	78,3	3,8
3 W/Z	0	0	9,8	8,5	30,3	9,0
3 NW/Z	58,7	14,8	69,3	17,9	86,3	6,6
1 W/Z	52,2	19,3	71,3	25,6	73,0	8,7
2 W/Z	0	0	21,3	18,7	46,7	9,7
3 W/Z	0	0	9,8	8,5	30,3	9,0
Motilitätsverlust in %						
1 W/Z	50		30		25	
2 W/Z	100		80		55	
3 W/Z	100		90		70	
3 W/Z + P	0	0	35,8	19,8	30,3	11,6

Tab. 1 Vergleich verschiedener Ionenlösungen bei gleicher kohlenhydrathaltiger Komponente (Glucose), hypertones Medium

Na-Citrat - Zugabe im hypertonen Medium war gegenüber Tris-HCl und Ringer-Fructose-Lösung am schlechtesten: die Motilität war bei zweimaligem Wasch- und Zentrifugationsvorgang vollständig aufgehoben. Bei Vergleich von Tris-HCl und Ringer-Fructose-Lösung wurden die eindeutig besseren Ergebnisse mit der Ringer-Fructose-Lösung erreicht.

	Na-Citrat		Tris-HCl		Ringer-Fructose	
	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s
1 W/Z	74,7	5,0	62,0	20,1	69,5	10,2
W/NZ	56,7	20,2	70,8	24,6	74,7	23,1
3 W/Z	8,7	7,8	0	0	38,7	35,3
3 NW/Z	76,5	15,5	68,8	23,9	69,7	6,5
1 W/Z	74,7	5,0	62,0	20,1	69,5	10,2
2 W/Z	26,8	24,7	18,0	21,3	54,3	27,8
3 W/Z	8,7	7,8	0	0	38,7	35,3
Motilitätsverlust in %						
1 W/Z	25		40		30	
2 W/Z	75		80		45	
3 W/Z	90		100		60	
3 W/Z + P	10,0	8,7	5,8	10,1	54,7	40,2

Tab. 2 Vergleich verschiedener Ionenlösungen bei gleicher kohlenhydrathaltiger Komponente (Glucose), hypotones Medium

Im hypotonen Medium wurde dagegen Tris-HCl am schlechtesten vertragen, während sich die annähernd isoosmolare Ringer-Fructose-Lösung auch hier wiederum als überlegen zeigte.

Bei Vergleich der Ringer-Fructose-Lösung im hyper- und annähernd isotonen Medium wurde die isotone Lösung besser toleriert als die hypertone; allerdings war der Unterschied gering. Na-Citrat-Lösung wurde im hypotonen Medium besser vertragen als im hypertonen.

Somit zeigt sich als schonendster Wasch- und Zentrifugationsvorgang die Verwendung von Ringer-Fructose-Lösung.

Zum Vergleich eines hyperosmolaren und eines isoosmolaren Mediums wurden für das erstere Fructose- und Glucose-lösungen genommen, für das letztere die Raffinoselösung, die dem menschlichen Spermaplasma annähernd isoosmolar ist.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt:

	Raffinose		Glucose		Fructose	
	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s
1 W/Z	83,0	12,5	71,3	25,6	76,0	12,8
W/NZ	71,7	19,3	58,0	16,4	73,5	16,2
3 W/Z	30,8	20,2	9,8	8,5	23,3	20,7
3 NW/Z	59,7	17,9	69,3	17,9	89,5	13,6
1 W/Z	83,0	12,5	71,3	25,6	76,0	12,8
2 W/Z	72,0	10,5	21,3	18,7	43,0	21,0
3 W/Z	30,8	20,2	9,8	8,5	23,3	20,7
Motilitäts-verlust in %						
1 W/Z	20		30		25	
2 W/Z	30		80		55	
3 W/Z	70		90		75	
3 W/Z + P	37,7	18,2	35,8	19,8	32,0	25,4

Tab. 3 Vergleich zweier hyperosmolarer Lösungen (Glucose und Fructose) mit einer isoosmolaren Raffinoselösung. Als Pufferlösung wurde in allen Fällen Tris-HCl verwendet.

Dabei zeigt sich, daß das isoosmolare Medium am besten toleriert wird. Der Motilitätsverlust war nach einmaligem Waschen und Zentrifugieren 20 %, nach zweimaligem Waschen und Zentrifugieren 30 % und nach dem dritten Wasch- und Zentrifugationsvorgang 70 %.

Gerade auf der Stufe des zweimaligen Wasch- und Zentrifugationsvorganges ist der Unterschied deutlich zu den hyperosmolaren Medien.

Zum Vergleich der Wasserstoffionenkonzentration wurden bei annähernd isoosmolarer Raffinoselösung Tris-HCl mit einer Pufferkapazität von 7,2 - 9,0 und Na-Citrat mit einem sauren pH von ca. 3,5 verwendet.

	Tris-HCl		Na-Citrat	
	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s
1 W/Z	83,0	12,5	78,3	9,0
W/NZ	71,7	19,3	64,3	4,7
3 W/Z	30,8	20,2	0	0
3 NW/Z	59,7	17,9	83,3	6,8
1 W/Z	83,0	12,5	78,3	9,0
2 W/Z	72,0	10,5	17,3	18,6
3 W/Z	30,8	20,2	0	0
Motilitätsverlust in %				
1 W/Z	20		20	
2 W/Z	30		85	
3 W/Z	70		100	
3 W/Z + P	37,7	18,2	7,0	6,1

Tab. 4 Vergleich verschiedener Ionenlösungen bei gleicher kohlenhydrathaltiger Komponente (Raffinose).

Dabei zeigt sich eine deutliche Überlegenheit der isoosmolaren und in der Wasserstoffionenkonzentration gleichen Lösung gegenüber der in den sauren pH-Bereich verschobenen Lösung. Die Säuerung des Mediums wird somit von den Spermatozoen schlechter vertragen, obwohl die gleiche Säuerung im artifiziellen Inseminationsmedium zur Senkung der metabolischen Prozesse angestrebt wird.

3. Motilitätsverhalten bei Zuordnung zu verschiedenen klinischen Syndromen

In der Zuordnung zu klinischen Syndromen wurde das Sperma von Patienten mit chronischer unspezifischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und der ableitenden Samenwege und vegetativem Kongestionssyndrom herangezogen.

Dabei wurden in der Gruppe der Entzündungen 7 Spermaproben mit einer hypertonen Fructose/Tris-HCl-Lösung behandelt und 5 Spermaproben mit einer hypotonen Fructose/Tris-HCl-Lösung.

Beim Kongestionssyndrom wurden 9 Spermaproben mit einer hypotonen und 6 Spermaproben mit einer hypertonen Fructose/Tris-HCl-Lösung behandelt.

Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Der Unterschied der hypertonen gegenüber der hypotonen Lösung prägt sich bei den Spermaproben von Patienten mit chronischer Entzündung kaum aus, während er sich bei den Spermaproben von Pationten mit vegetativem Kongestionssyndrom deutlich zeigt, insofern die hypertone Lösung besser toleriert wird als die hypotone.

Vergleicht man beide Gruppen der chronischen Entzündung und des vegetativen Kongestionssyndroms miteinander, dann zeigt sich bei Behandlung mit hypertoner Lösung ein deutlicher Unterschied:

Spermaproben von Pationten mit chronischer Entzündung sind gegenüber der bloßen Dilution und gegenüber dem dreimaligen Wasch- und Zentrifugationsvorgang deutlich vulnerabler als Spermaproben von Pationten mit vegetativem Kongestionssyndrom. Auch zeigen sie in der Wiederbelebung trotz der größeren Schädigung einen geringeren Effekt bei Zugabe des eigenen Spermaplasmas.

	Kongestionssyndrom				Chronische Entzündung			
	hyperton (6)		hypoton (9)		hyperton (7)		hypoton (5)	
	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s	$\bar{m}$	s
1 W/Z	78,0	11,2	76,2	9,7	69,6	11,2	70,6	13,2
W/NZ	79,5	10,3	69,8	11,8	63,1	16,0	69,2	18,0
3 W/Z	30,6	6,9	2,5	5,1	6,9	8,6	7,2	16,1
3 NW/Z	93,3	13,0	86,2	11,1	82,3	11,9	87,6	10,5
1 W/Z	78,0	11,2	76,2	9,7	69,6	11,2	70,6	13,2
2 W/Z	47,3	9,2	34,4	16,2	29,6	18,4	25,0	19,5
3 W/Z	30,6	6,9	2,5	5,1	6,9	86,	7,2	16,1
Motilitäts-verlust in %								
1 W/Z	20		25		30		30	
2 W/Z	55		65		70		75	
3 W/Z	70		100		95		95	
3 W/Z + P	41,0	15,2	6,2	10,8	13,8	20,1	17,4	23,9

Tab. 5 Zentrifugieren und Waschen mit Fructose/Tris-HCl bei Spermaproben von Patienten mit chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und vegetativem Kongestionssyndrom, getrennt nach hyper- und hypotonem Waschmedium.

V. Diskussion

Unsere Untersuchungen haben aufgezeigt, daß der zur Trennung der Spermatozoen vom Spermaplasma nötige Wasch- und Zentrifugationsvorgang bei menschlichen Spermatozoen in einem unterschiedlichen Ausmaß schädigend ist. Die Schädigung wurde nachgewiesen an dem Motilitätsverlust der Spermatozoen.

Grundsätzlich mußte zunächst die Frage gestellt werden, ob beim Wasch- und Zentrifugationsvorgang die Dilution oder die Zentrifugation der entscheidende Schädigungsfaktor ist. - Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Spermaproben einmal lediglich dilutiert, dann dilutiert und zentrifugiert und schließlich lediglich zentrifugiert. Der Vergleich zeigt eindeutig auf, daß die Zentrifugation bei den gewählten Umlaufgeschwindigkeiten wenig schädigend ist, daß jedoch bei Hinzutreten graduell gesteigerter Dilution im Zusammenhang mit der Zentrifugation die stärkste Schädigung der Spermatozoen eintritt.

Offensichtlich werden die Spermatozoen in der Dilution vulnerabler gegenüber den äußeren Einwirkungen bei der Zentrifugation.

Die Schädigung der Spermatozoen ist abhängig von der vorgegebenen Qualität des Spermas, die in unseren Untersuchungen aus der vorgegebenen Spermatozoenmotilität bestimmt wurde: je besser die Ausgangsmotilität, um so geringer war der Motilitätsverlust. Von dieser Regel gab es Ausnahmen. Das einmalige Waschen und Zentrifugieren war nur gering schädigend, deutlich dagegen beim zweiten Wasch- und Zentrifugationsvorgang, während nach dreimaligem Waschen und Zentrifugieren die Schädigung sich weiter gesteigert hatte. Die Schädigung nimmt also proportional mit der Anzahl der Wasch- und Zentrifugationsvorgänge zu.

Berücksichtigt man in diesem Zusammenhang die Molalität des Mediums, zeigen sich weitere bedeutende Unterschiede.- In unseren Versuchsanordnungen war die hyperosmolare Lösung in der Molalität gegenüber Spermaplasma im Mittel um 150 % (Fructose/Glucose) gesteigert, das hypoosmolare Medium jedoch nur um 20 - 50 % vermindert. Als isoosmolare Lösung wurde eine Raffinoselösung verwendet, mit Tris-HCl.

Unsere Ergebnisse zeigen auf, daß bereits eine 20 - 50% ige Reduzierung der Molalität einen deutlichen Effekt auf den Wasch- und Zentrifugationsvorgang hat. Verglichen mit der um ca. 150 % hypertonen Lösung fand sich eine erhebliche Verschlechterung der Spermatozoenmotilität, während bei Vergleich der isoosmolaren und der hyperosmolaren Lösung die erstere besser toleriert wurde. Der Unterschied war jedoch geringer.

Somit zeigt sich deutlich, daß ein hypoosmolares Medium erheblich schädigender ist als ein hyperosmolares Medium. In unseren Untersuchungen konnten wir nach dreimaligem Waschen und Zentrifugieren lediglich in 3 von 15 Fällen überhaupt noch Motilität feststellen, während beim selben Wasch- und Zentrifugationsvorgang die prozentuale Reduzierung der Motilität durch das hyperosmolare Medium lediglich 75 % betrug und beim isoosmolaren 70 % ausmachte. Der Unterschied zwischen den beiden letzt genannten Gruppen ist unerheblich. Rechnet man hinzu, daß beim hyperosmolaren Medium die Motilität um 100 % gesteigert war, läßt sich daraus schließen, daß eine iso- bzw. gering hyperosmolare Lösung am besten toleriert wird. Die Schädigung der Spermatozoen wurde an der Motilitätseinbuße bzw. Immobilisierung der Spermatozoen gemessen. Ob Immobilisierung bereits Devitalisierung bedeutet, ließ sich nicht entscheiden. Zu diesem Zweck wurde das jeweilige Spermaplasma nach dreimaligem Wasch- und Zentrifugationsvorgang hinzugegeben, wobei sich bei den Spermaproben, die mit dem hypertonen

Medium behandelt worden waren, ein besserer Wiederbelebungseffekt zeigte, als bei Spermaproben, die dem hypotonen Mediumausgesetzt waren. Der Wiederbelebungseffekt war unterschiedlich ausgeprägt.

Einzelne Proben wiesen deutliche Steigerung auf; andere zeigten jedoch keinen Effekt bzw. einen negativen Effekt. Insgesamt darf man jedoch aus dieser Reaktion schließen, daß Immobilisierung noch nicht Devitalisierung bedeutet, was in Übereinstimmung mit den von W e i r a u c h und H o f m a n n (12,20) durchgeführten Untersuchungen zur Wiederbelebung nach isotoner Dilution steht. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen war der Wiederbelebungseffekt bei isotoner Dilution ausgeprägter.

Ausgehend von dem sauren pH der artifiziellen Inseminationsmedien war eine gleiche H^+-Ionenkonzentration hergestellt worden. Säuerung der Spermatozoen bedeutet Reduktion der metabolischen Stoffwechselvorgänge, somit eine Abiose. Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen eindeutig auf, daß die Änderung des pH-Wertes in das saure Milieu beim Wasch- und Zentrifugationsvorgang eher den gegenteiligen Effekt hat. Die Spermatozoen verlieren total ihre Motilität bei der dreimaligen Aufbereitung.

Der Vergleich einer Puffer-Lösung (Tris-HCl) mit einer Wiederbelebungsflüssigkeit (Ringer-Fructose) zeigt, daß die ionale Zusammensetzung der Wiederbelebungsflüssigkeit offensichtlich besser toleriert wird als die Pufferung.

Somit läßt sich für die schonende Trennung der Spermatozoen von Spermaplasma als optimales Waschmedium eine iso- bzw. leicht hyperosmolare gepufferte kohlenhydrathaltige Lösung herausstellen.
Wenn das umgebende Ionenmilieu nicht von Bedeutung ist, würde sich sogar eine Zugabe einer ionalen Wiederbelebungsflüssigkeit als nützlich erweisen.

Unsere Untersuchungen stehen in Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen von Emmens and Swyer (8), Wales and White (19) sowie von Joel (16). Sie zeigen insgesamt auf, daß bisher beim menschlichen Sperma ein schonendes Verfahren zur Trennung von Sperma und Spermaplasma noch nicht gegeben ist. Die Spermatozoen werden mit zunehmender Trennung von den sie umgebenden natürlichen Medien geschädigt, wobei sich stärker schädigend die Dilution ausprägt als die Zentrifugation und beide Verfahren in der Kombination die deutlichste Schädigung bewirken.

In den Untersuchungen von Weirauch (20) und von Bodenstein (3) war bei Vergleichen der Spermaproben von fertilen Männern mit sub- bzw. infertilen Männern festgestellt worden, daß bei Entzündungen der akzessorischen Geschlechtsdrüsen die stärkste Schädigung der Spermatozoenmembranen eintritt. Die Spermatozoen von Patienten mit derartigen Erkrankungen sind gegenüber äußeren Einwirkungen durch Dilution und Zentrifugation vulnerabler.

In unserer Untersuchungsreihe haben wir die Spermaproben von Patienten mit chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen verglichen mit Spermaproben von Patienten mit vegetativem Kongestionssyndrom. Bei Patienten mit vegetativem Kongestionssyndrom ist eine Hyperviskosität des Spermaplasmas, ein vermehrtes Auftreten von Agglomerationsphänomenen und eine Einschränkung der Spermatozenprogression bekannt.

Chronische Entzündungen führen dagegen zu einer tiefgreifenden Schädigung der Spermatozoen, bei der sowohl die Spermatozoenausreifung sowie die Spermatozoenbildung beeinträchtigt ist. Klinisch ist es nicht immer einfach zwischen diesen beiden Syndromen zu unterscheiden.

Wir haben daher Spermaproben von Patienten mit diesen Syndromen dem forcierten Wasch- und Zentrifugationsvorgang unterworfen. Dabei zeigte sich ein deutlicher Unterschied. Die Spermatozoen von Patienten mit chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen werden stärker geschädigt als die Spermatozoen von Patienten mit vegetativem Kongestionssyndrom.

Das Ergebnis unserer Untersuchung bestätigt somit die oben angegebene Schädigung der Spermatozoen bei chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und beim vegetativem Kongestionssyndrom.

VI. Zusammenfassung

1. Die Trennung menschlicher Spermatozoen vom Spermaplasma muß durch Zentrifugation und Dilution erfolgen. Beide Vorgänge sind für die Spermatozoen schädigend, wobei in der zur Trennung erforderlichen kombinierten Anordnung die stärkste Schädigung eintritt.
2. Bei vorgegebener guter Spermaqualität ist die Schädigung geringer; bei vorgegebener schlechter Spermaqualität stärker.
3. Mit jedem Wasch- und Zentrifugationsvorgang prägt sich die Schädigung deutlicher aus.
4. Wenn kohlenhydrathaltige Medien herangezogen werden müssen, wird das iso- bzw. gering hyperosmolare Medium besser toleriert als das gering hypoosmolare Medium.
5. Eine Verschiebung des pH-Wertes ins Saure zur Erzielung einer Abiose ist eher schädlich als nützlich.
6. Der Motilitätsverlust bzw. die Immobilisierung kann partiell kompensiert werden durch Zugabe des eigenen Spermaplasmas. Damit deutet sich an, daß die Schädigung durch eine Permeationsänderung der Zellmembranen bewirkt wird. Diese kann durch makromolekulare Lösungen zum Teil wieder aufgehoben werden.
7. Beim Vergleich der Spermaproben von Patienten mit chronischer Entzündung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und Patienten mit vegetativem Kongestionssyndrom weisen die Spermatozoen der ersteren Gruppe eine deutlich erhöhte Vulnerabilität auf.

VII. Literaturverzeichnis

1. BISHOP, D.W.
   WALTON, H.
   Metabolism and motility of mammalian spermatozoa.
   In: Marshall's Physiology of Reprod.,
   ed. A.S. Parker, Vol.1,pp.264-295,
   Green and Co: London (1960)

2. BLACKSHAW, A.W.
   EMMENS, C.W.
   The interaction of pH, osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of ram, bull and human spermatozoa.
   J. Physiol. 114, 16 - 26 (1951)

3. BODENSTEIN, J.
   Untersuchungen zur Spermazentrifugation und anschließender Kryoaufbereitung.
   Inaugural-Dissertation,
   Erlangen (1974)

4. DOEPFMER, R.
   Das Ejakulat.
   In: Fertilitätsstörungen des Mannes.
   J. Jadasohn's Handb. d. Haut- u. Geschlechtskr.heiten,
   Erg. Werk VI/3, 281 - 382
   Springer: Berlin-Gött.-Heidelb.
   1960

5. DORN, R.
   Untersuchungen über das Verhalten menschlicher Spermatozoen bei langsamer und schneller Zentrifugation.
   Inaugural-Dissertation
   Erlangen (1976)

6. DREVIUS, L.O.
   Osmotic behaviour, membrane permeability and mobility mechanisms in bull spermatozoa
   Thesis, Uppsala (1972)

7. EMMENS, C.W.
The effect of variations in osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of rabbit spermatozoa at different hydrogenion concentrations.
J. Physiol. (London) 107, 129 - 140 (1948)

8. EMMENS, C.W.
SWYER, G.I.M.
Observations on the motility of rabbit spermatozoa in dilute suspension.
J. Gen. Physiol. 32, 121 - 138 (1948)

9. GLOVER, T.D.
NICANDER, L.
Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 13, 39 - 50 (1971)

10. HOFMANN, N.
Fertilitätsstörungen und chronische Entzündungen im Genitalbereich.
In: Fortschritte der Andrologie, Vol. 4, Grosse-Verlag: Berlin 1975

11. HOFMANN, N.
KARLAS, W.
Untersuchungen zur Osmolalität des menschlichen Seminalplasmas.
Arch. Derm. Forsch. 246, 35 - 46 (1973)

12. HOFMANN, N.
WEIRAUCH, W.
Untersuchungen zur Spermienresistenz gegenüber isotonischer Verdünnung des Spermaliquors.
Arch. Derm. Forsch. 243, 232 - 240 (1972)

13. HORNSTEIN, O.P. Entwicklung und aktuelle Bedeutung der Andrologie. Münchner med. Wschr. 39, 1956 - 1963 (1969)

14. HORNSTEIN, O.P. Spermatologische Diagnostik. Dt. Ges. Inn. Med. 76, 311 - 318 (1970)

15. HÜTTEL, W. Untersuchungen zur enzymatischen Liquefaktion von menschlichem Sperma. Inaugural-Dissertation Erlangen (1973)

16. JOEL, C. Studien an menschlichem Sperma. Schwabe, Basel 1953

17. MANN, T. The Biochemistry of semen and of the male Reproductive tract. Methuen, London 1964

18. NELSON, L. Sperm motility. In: Fertilization, ed. by Metz, C.B. and Monroe A., Vol. I, pp. 27 - 47 Acad. Press, New York-London 1967

19. WALES, A.G. WHITE, J.G. Viability of diluted dog spermatozoa. J. Reprod. Fert. 5, 67 - 76 (1963)

20. WEIRAUCH, W. Resistenzbestimmungen von Spermien infertiler Männer gegenüber isotonischer Dilution. Inaugural-Dissertation Erlangen (1973)

21. WHITE, J.G. Metabolic studies of washed and diluted ram and bull spermatozoa. Aust. J. biol. Sei. 6, 706 - 715 (1953)

22. WHITE, J.G. The effect of seminal constituents and releated substances on diluten mammalian spermatozoa. Aust. J. biol. Sei. 7, 379 - 385 (1954)

23. WHITE, J.G. HARRISON, R.A.P. Observations on the survival of washed boar spermatozoa in different media. J. Reprod. Fert. 26, 129 - 132 (1971)

VIII. Anhang

Medium	Glucose/Na-Citrat				Raffinose/Tris-HCl				Glucose/Tris-HCl				Fructose/Tris-HCl				Glucose/Ringer-Fructose				Raffinose/Na-Citrat			
	Ia		Ib		IIa		IIb		IIIa		IIIb		IVa		IVb		Va		Vb		VIa		VIb	
	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s	m̄	s
1 W/Z	52,2	19,3	74,7	5,0	83,0	12,5	67,0	4,0	71,3	25,6	62,0	20,1	76,0	12,8	75,0	11,3	73,0	8,7	69,5	10,2	78,3	9,0	61,0	10,3
W/NZ	65,7	3,0	56,7	20,2	71,7	19,3	50,0	1,0	58,0	16,4	70,8	24,6	73,5	16,2	69,3	13,2	78,3	3,8	74,7	23,1	64,3	4,7	57,7	8,4
3 W/Z	0	0	8,7	7,8	30,8	20,2	0	0	9,8	8,5	0	0	23,3	20,7	4,0	9,7	30,3	9,0	38,7	35,3	0	0	0	0
3 NW/Z	58,7	14,8	76,5	15,5	59,7	17,9	87,3	13,3	69,3	17,9	68,8	23,9	89,5	13,6	87,0	10,2	86,3	6,6	69,7	6,5	83,3	6,8	79,5	6,3
1 W/Z	52,2	19,3	74,7	5,0	83,0	12,5	67,0	4,0	71,3	25,6	62,0	20,1	76,0	12,8	75,0	11,3	73,0	8,7	69,5	10,2	78,3	9,0	61,0	10,3
2 W/Z	0	0	26,8	24,7	72,0	10,5	6,3	11,0	21,3	18,7	18,0	21,3	43,0	21,0	31,0	16,8	46,7	9,7	54,3	27,8	17,3	18,6	3,0	4,9
3 W/Z	0	0	8,7	7,8	30,8	20,2	0	0	9,8	8,5	0	0	23,3	20,7	4,0	9,7	30,3	9,0	38,7	35,3	0	0	0	0
Motilitäts-verlust in %																								
1 W/Z	50		25		15		35		30		40		25		25		25		30		20		40	
2 W/Z	100		75		30		95		80		80		55		70		55		45		80		95	
3 W/Z	100		90		70		100		90		100		75		95		70		60		100		100	
3 W/Z + P	0	0	10,0	8,7	37,7	18,2	0	0	35,8	19,8	5,8	10,1	32,0	25,4	9,5	16,3	30,3	3,8	54,7	40,2	7,0	6,1	0	0
Fallzahl	3		3		3		3		3		3		15		15		3		3		3		3	

Zahlenangaben in % der Ausgangsmotilität (= Nativwert) der Spermaproben.

Medium[x]	Ia			Ib			IIa			IIb			IIIa			IIIb			Va			Vb			VIa			VIb		
nativ	70	64	63	68	66	65	65	61	55	68	63	56	78	69	60	70	56	40	77	65	64	70	70	52	67	63	60	62	61	34
1 w/z	33	23	46	54	46	48	62	50	39	48	42	35	54	67	28	57	40	13	60	41	50	54	51	30	46	50	52	41	30	23
2 w/z	0	0	0	0	32	21	54	43	34	0	12	0	27	20	0	29	0	5	38	23	35	46	53	12	0	10	22	0	5	0
3 w/z	0	0	0	0	10	7	32	21	5	0	0	0	12	10	0	0	0	0	27	13	23	33	48	0	0	0	0	0	0	0
3 nw/z	32	35	47	60	39	53	42	46	22	49	59	54	70	40	36	62	42	17	68	51	59	47	45	40	61	49	49	53	48	25
3 w/z + P	0	0	0	0	10	10	35	25	10	0	0	0	23	40	12	0	0	7	28	11	24	46	61	5	0	7	6	0	0	0
w/nz	46	40	43	24	49	39	61	37	33	33	32	28	42	52	26	60	47	17	62	48	51	61	61	25	44	37	41	39	29	21
Patient Code-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60

x Waschmedien I - VI s. S. 7/8

Medium[x]	IVa															IVb														
nativ	71	70	69	67	65	64	63	63	63	60	60	58	58	51	47	74	71	71	71	70	69	68	63	63	63	60	57	57	55	41
1 w/z	68	63	63	40	54	45	53	48	47	48	43	42	29	30	39	66	60	57	46	46	54	61	50	44	42	51	50	34	40	22
2 w/z	49	59	41	24	35	33	24	25	22	27	0	28	9	10	23	32	31	26	10	21	32	19	32	20	23	33	13	0	12	0
3 w/z	50	53	27	18	23	17	13	0	10	21	0	10	0	8	0	0	0	0	0	7	0	0	23	0	0	0	0	0	7	0
3 nw/z	77	68	60	64	58	61	73	46	53	46	48	45	53	34	48	73	55	64	62	63	61	63	57	52	45	61	51	46	36	41
3 w/z + P	53	43	28	22	25	21	45	0	10	18	0	17	0	0	24	0	5	0	0	14	0	0	30	0	25	0	0	0	16	0
w/nz	64	65	58	48	53	46	61	42	45	43	42	43	31	16	35	62	47	47	43	47	45	44	58	42	38	54	48	28	40	20
Patient Code-Nr.	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48

x Waschmedium IV s. S. 7/8

Lebenslauf

Am 29. Oktober 1948 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Werner Fiermann und seiner Ehefrau Gertrud,geb. Eckert, in Weißenfels/Saale geboren. Von 1955 bis 1959 besuchte ich die Volksschule in Zirndorf, von 1959 bis 1968 das Hardenberg-Gymnasium in Fürth/Bayern, an welchem ich nach 9 Jahren am 23. Juli 1968 das Reifezeugnis erwarb.

Vom Herbst 1968 bis Herbst 1970 studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Naturwissenschaften. Im Wintersemester 1970/71 begann ich mit dem medizinischen Studium an der gleichen Universität. Im Sommer 1972 bestand ich das Physikum und legte in der Zeit vom 11. September 1975 bis 29. Januar 1976 das medizinische Staatsexamen ab.

Erlangen, im August 1976

Werner Klaus Fiermann

Copy-Center 2000
852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197